

## Tejfehérje meghatározására alkalmas készülék\*

LENDVAI ILDIKÓ\*\*, LISZONYI IMRÉNÉ\*\*,  
KACSKOVICS MIKLÓS\*\*\* és GYULAI BÉLA\*\*\*\*

A tej fehérjetartalmának meghatározása jelenleg nem szerepel a szabványos vizsgálatok között, jöllehet a tejfehérje a tej biológiailag egyik legfontosabb alkotórésze.

A fehérjetartalom meghatározása több szempontból okoz problémát. A különböző típusú, de az azonos termékek egyedei között is változó a fehérje-összetétel. Ugyanakkor a különböző eljárások általában a fehérjék egyes elemi alkotórészét, vagy bizonyos csoportjait határozzák meg (1, 2), és az eredményekből következtetnek a fehérje mennyiségére. Így az eljárások nem szigorúan specifikusak, a nem fehérje-típusú, azonos jellegű egyéb összetevők is befolyásolhatják a meghatározás eredményét a fehérje-összetételben rejlő szerkezeti különbségek okozta eltérések mellett.

Színezékmegkötéses tejfehérje-meghatározó módszerek már korábban is rendelkezésre álltak. Ezek fotométeres eljárások, 1964 óta pedig a dán A/S Foss Electric cég által kibocsátott pro Milk II. automatikus fehérjevizsgáló készülékkel – szintén színezékmegkötéses alapon – közvetlenül a fehérjetartalmat lehet meghatározni (3).

A Sasad MGtsz-ben készített ismertetésre kerülő műszer az egyre inkább teret hódító színezékmegkötéses módszer (4, 5, 6) elve alapján működik. A megkötött színezékmennyiség és a fehérjetartalom között korreláció áll fenn. A fehérje és a színezék közötti reakciómechanizmust még nem sikerült egyértelműen megismerni. Általában feltételezik, hogy egységnyi súlyú fehérje állandó mennyiségű színezéket köt meg és választ le sztöchiometrikusan lejátszódó reakció folyamán, amely a fehérje bázikus csoportja és a színezék savas csoportja között megy végbe. A megkötött színezékfehérje arányt nevezik a fehérje színezékmegkötő képességének.

### Anyagok és módszerek

Az egyes színezékek meghatározott körülmények között kötődnek a fehérjéhez. A keletkezett fehérje-színezék komplex oldhatatlan, így szűrhető és a szűrletből a nem reagált színezék mennyisége kolorimetriásan meghatározható.

A Sasad MgTSZ Műszerén a fehérjetartalom mérése a következőképpen történik:

Egy órás bemelegedés után a műszer skálájának kezdő és végpontját meghatározott koncentrációjú amidofekete 10 B oldattal beállítjuk.

\* Az 1975. nov. 13-án Kecskeméten tartott konferencián elhangzott előadás alapján

\*\* KÉVI,\*\*\* MÉVI, Pécs,\*\*\*\* Sasad Mgtsz. Budapest.

9 g amidofekete 10 B  
19,8 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
172,7 g citromsav  
3 g thymol

A skálavégpontok beállítását az elkészített amidofekete 10 B reagenssel (0%), illetve ennek desztillált vízzel hígított (8%-os az eredetire nézve) oldatával (5,5%) végezzük el. Amennyiben eltérést tapasztalunk, hígítással, illetve további színezékadagolással kell az eredeti színezékoldat koncentrációját korrigálni.

A fehérjetartalom mérése a tejmintákban a következők szerint történik:

1 cm<sup>3</sup> tejet 20 cm<sup>3</sup> színezékoldattal szobahőmérsékleten összekeverünk. A szuszpenziót összerázzuk és a műszeren levő fecskendőbe töltjük. A fecskendő bajonett-zárral csatlakozik egy szűrőfelülethez, amelyet egy MN 85 típusú szűrőszövet képez.

A folyadékot fecskendővel átpréseljük a szűrőn. A szűrlet átfolyó rendszerű küvetta kerül, amelyet állandó hullámhosszú és intenzitású fényforrás világít meg. A műszer érzékelője egy fotocella, amely az átjutott fényaláb intenzitását méri. A fényintenzitással arányosan mozdul el a mutató, amely egy közvetlenül fehérje-tartalmat mutató skála előtt mozog.

Amellett, hogy a műszer alkalmazástechnikai vizsgálatát elvégeztük, célul tűztük ki a mérések megbízhatóságának ellenőrzését is. Egyrészt a skála hitelességét, másrészt a reprodukálhatóságot vizsgáltuk.

A skála hitelességét hagyományos tejfehérje meghatározási módszerekkel kapott adatok és a műszeres mérések eredményeinek összehasonlításával ellenőriztük.

A kísérletek során a szokásos referenciamódszerként alkalmazott – az összes nitrogén mennyiségét mérő – Kjeldahl-, valamint a színezékmegkötéses módszerhez hasonló, a funkcionális csoportok mennyiségének meghatározásán alapuló formoltitrálásos módszerrel különböző kereskedelmi tejmintákból a műszeres vizsgálattal egyidejűleg határoztuk meg a fehérjetartalmat (7). A kereskedelmi tejmintákból tejporral dúsítva két hígítási sort készítettünk a teljes mérési tartomány kihasználására. Tejpor vizes oldatából, valamint dúsítatlan tejmintából is készítettünk hígítási sort. Így különböző eredetű minták kerültek vizsgálatra.

Abból a célból, hogy a színezékmegkötés intenzitásának a fehérjekoncentrációtól való függését megállapítsuk, a következő kísérletsorozatot végeztük el:

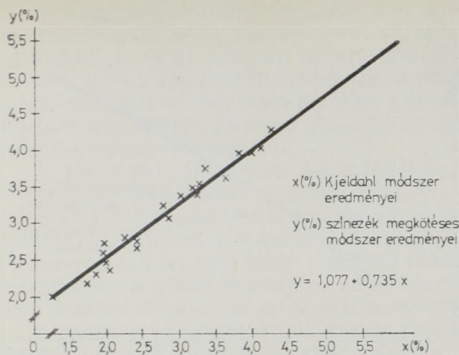
A vizsgálatokhoz használt színezékoldatból hígítási sort készítettünk, a színezékoldatok koncentrációját a műszerrel meghatároztuk. A színezékkoncentráció és a hozzátartozó skálaérték alapján megállapítottuk, hogy egy adott skálaértékhez mennyi kötött színezékmennyiség tartozik. Kereskedelmi tejmintából is készítettünk hígítási sort. A kezdeti fehérje koncentrációt meghatároztuk és ebből a hígításnak megfelelő koncentrációkat kiszámítottuk. Ezután elvégeztük a műszeres meghatározást.

### Eredmények

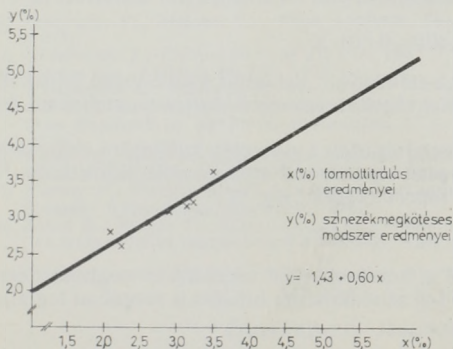
A Kjeldahl-módszerrel végzett összehasonlító vizsgálat-sorozat eredményeit tartalmazza az 1. ábra. Az adatok minden esetben két-két meghatározás átlagát jelentik.

A formoltitrálás és műszeres mérések eredményeit tartalmazza a 2. ábra.

A 3. ábrán a színezékmegkötés intenzitásának és a fehérjekoncentrációnak kapcsolatát szemléltetjük.



1. ábra  
Színezékmegkötéses módszerrel kapott eredmények a Kjeldahl módszerrel megállapított fehérjetartalom függvényében.



2. ábra  
Színezékmegkötéses módszerrel kapott eredmények a formol-titrálással megállapított fehérjetartalom függvényében

### Következtetések, matematikai-statisztikai értékelés

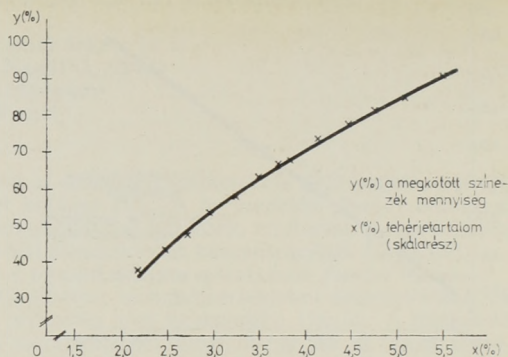
Az eredmények értékelésénél figyelembe vettük, hogy az összehasonlítandó adatok mindegyike hibával terhelt, hogy nem azonos jellegű vegyületek meghatározásán alapulnak az egyes alkalmazott módszerek, ugyanakkor a fehérje-összetétel is statisztikus ingadozást mutat, ami miatt további bizonytalanságot növelő hatásokra kell számítani.

A számításoknál a kétváltozós lineáris regresszió-számításból kiinduló Deming-féle értékelési módszer *Zukál* és munkatársai által továbbfejlesztett változatát alkalmaztuk, amelynél a fenti szempontok figyelembevétele megtörtént (8).

A Kjeldahl-módszerrel végzett összehasonlító vizsgálatok eredményeiből számított, legjobban illeszkedő egyeneslete (1. ábra):

$$Y = 1,077 + 0,735 X$$

3. ábra  
Megkötött színezékek mennyisége a fehérjetartalom függvényében



A formol-titrálással végzett vizsgálat sorozat eredményeiből számított egyenlet (2. ábra):

$$Y = 1,429 + 0,601 X$$

A reprodukálhatóság és a minta-előkészítés, valamint a különböző tejminták feldolgozásából származó bizonytalanságokat egyszerű varianciaanalízissel határoztuk meg:

Azonos tejmintából színezékmegkötés után a műszeren különböző időpontokban leolvasott értékekből a leolvasás reprodukálhatósága volt számítható. 70 adatot dolgoztunk fel, melyből a reprodukálhatóság ( $s_1$ ):

$$(s^2 = 0,0031) \quad s_1 = \pm 0,055\%$$

Azonos tejmintából különböző színezék-oldattal végeztük a meghatározást, az eredményekből számított szórás ( $s_2$ ) az előkészítés hibáját is magában foglalja. 12 adatpárból számítva a szórást:

$$(s^2 = 0,0046) \quad s_2 = \pm 0,068\%$$

Ha különböző eredetű tejminták fehérjeösszetételét határozzuk meg, a két módszer kapcsolatát kifejező regressziós egyenes körüli szórás ( $s_3$ ) a fehérjeösszetétel eltéréseiből eredő bizonytalanságot is tartalmazza.

$$(s^2 = 0,0073) \quad s_3 = \pm 0,085$$

Két mérés összehasonlításánál lehetőség van annak a viszonyzámnak a kiszámítására, amely megmutatja, hogy a módszerek közül melyik az érzékenyebb (8). A referenciamódszer reprodukálhatósága, valamint a vizsgált új módszerrel mért értékek regressziós egyenestől való átlagos eltérése határozza meg az ún. érzékenységi hányadost. Ennek értéke a Kjeldahl-módszerrel végzett összehasonlító vizsgálati eredmények alapján:

$$E = 1,26$$

azaz a műszeres eljárás 1,26-szor érzékenyebb, mint a referencia-módszer. Hasonló eredményre jutottunk a formoltitrálással végzett kísérlet sorozat értékelése során is.

A fehérjekoncentráció függvényében a színezékmegkötés jellegére vonatkozó kísérletekből a következtetéseket a 3. ábra alapján vontuk le. Ennek alapján megállapítható, hogy a higabb fehérjeoldatokban a színezékmegkötés intenzitása nagyobb, mint a töményebb fehérje-tartományban, vagyis a műszeren nagyobb fehérjekoncentráció olvasható le, mint a tényleges. Ez magyarázza a kisebb fehérjetartalmú minták esetében tapasztalt eltérést a Kjeldahl-módszerrel meghatározott értékhez viszonyítva:

A készülékre vonatkozó észrevételeink:

A Sasad Mgtsz által gyártott műszer a kereskedelmi értékesítésre kerülő tejminták fehérjetartalmának meghatározására alkalmas. A mérések kivitelezése egyszerű. 1 mintából a fehérjetartalom meghatározása 3 percet vesz igénybe. A műszerrel kapott eredmény a normál fehérjetartalmú tejeknél gyakorlatilag megegyezik a Kjeldahl-módszerrel kapott értékkel. A regressziós egyenes ismertetében átszámítható ez az érték más koncentráció-viszonyokra is.

A műszer megbízhatóan működik, az azonos tejmintákra vonatkozó bizonytalanság és a leolvasásnál fellépő eltérések nem különböznek lényegesen egymástól, a szórás értéke: 0,05–0,06%. A különböző eredetű tejmintáknál ez a bizonytalanság csekély mértékben növekszik és a számított regressziós egyenes körüli szórás 0,08%-nak adódott.

#### IRODALOM

- (1) *Pomeranz, Y., Meloan, C.*: Food Analysis: Theory and Practia, Westport, Conneitcal (1971).
- (2) *Nedelkovits J.*: Élelmezési Ipar 21, 131, 1967.
- (3) *Uzonyi Gy.*: ÉVIKE 18, 143, 1971.
- (4) *Kolakowski E.*: Nahrung 18, 371, 1974.
- (5) *Lakin, A. L.*: Comparison of the amounts of dyes band by milk proteins under the conditions employed in dyebinding procedures. XIX. International Dairy Congress 1. E. 277, 1974.
- (6) *Remer, E., Ardo S.*: Determination of the casein and Áhey protein contents of milk by amido black methods. XIX. International Dairy Congress 1. E. 459, 1974.
- (7) *Ketting F.*: Élelmiszeripari technikumi tankönyv Laboratóriumi gyakorlatok III. kötet. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1964.
- (8) *Zukál E., Fényes T., Kőrmendy L.*: Analitikai módszerek felülbírlatának és összehasonlító értékelésének matematikai problémái. Kísérletügyi Közlemények 63, 41, 1970.

#### HAZAI LAPSZEMLE

Összeállította: Kacs Kovics Miklós

*Szabó A.*: Adatok a baromficsont és a tojáshéj stroncium tartalmáról. Baromfiipar, 22, 407, 1975.

*Szabó A. és Bende E.*: Adatok a tej stroncium- és cézium-tartalmáról. Tejipar, 24, 58, 1975.,

*Edelényi M., Tóth Á. és Molnárné Szabó T.*: Pezsgők illat- és zamatanyagainak gázkromatográfiás vizsgálata. Borgazdaság, 23, 149, 1975.

*Dankó E.*: A mustok és borok glükóz-fruktóz arányának kolorimetrikus meghatározása. Borgazdaság, 23, 152, 1975.

*Kiss B. és Romvári A.*: A sörárpa fehérjetartalmának hatása a maláta és sör minőségére. Söripar, 22, 167 1975.

*Dobrádi É. és Csorba S.-né*: Üdítőitalok minőségellenőrző módszereinek összehasonlítása. Szeszipar, 23, 137 1975.

*Bezeczky Gy.*: A Borsodi Sörgyárban alkalmazott sörgyártási technológia és a sörminőség vizsgálata. Söripar, 22, 172, 1975.

*Kurucz É., Biacs P. és Erdélyi A.*: A szójalecitin poláris lipidjei. I. foszfo-